

心筋細胞に対する光増感反応による
活動電位障害の検討モデル

2018 年度

土井 万理香

主 論 文 要 旨

報告番号	㊦ 乙 第	号	氏 名	土井 万理香
主 論 文 題 名： 心筋細胞に対する光増感反応による活動電位障害の検討モデル				
<p>(内容の要旨)</p> <p>本研究では、<i>in vivo</i> 心筋組織に対するタラポルフィンナトリウムを用いた光増感反応による即時的な活動電位障害の調査に用いる、<i>in vitro</i> 心筋細胞モデルに関して検討した。不整脈の電気信号遮断治療に光増感反応を応用するための基礎検討として、心筋組織の酸化作用に対する即時的な活動電位障害に関するエビデンスを <i>in vitro</i> 細胞実験で得ることが望ましいが、調査に用いる <i>in vitro</i> モデルが存在しない。そこで本研究では、溶液流れにより光増感反応の酸素環境を改善するとともに、低侵襲な <i>in vitro</i> 電位計測法を採用した。<i>In vitro</i> モデルの対照となる <i>in vivo</i> モデルでは、薄い心筋組織と、安定した接触が可能な環状レーザカテーテルおよび環状電極カテーテルを採用した。そして、これらのモデルで共通の電位障害基準を定義して、両モデルの光増感反応に対する応答を比較することで、<i>in vitro</i> 心筋細胞モデルの光増感反応による活動電位障害検討の有用性を示した。</p> <p><i>In vitro</i> でのラット心筋細胞の電位計測法として、低侵襲な多電極アレイによる接触電位計測と、膜電位感受性色素蛍光計測の 2 方法を検討した。前者では、電極に対する垂直方向の細胞接触性が不安定なため生じたとと思われる測定波形のバリエーションが観測されたため、本研究に適さないと判断した。後者の方法の色素毒性に関する条件検討後、安定した活動電位計測が可能であったため、膜電位感受性色素の蛍光計測法を採用した。光増感反応中に反応領域に対して細胞剥離、細胞の自発拍動停止が生じない上限である 0.4 mm/s で未反応の溶液を流して、反応領域に酸素供給を行った。酸素供給速度の改善は、流れが 0.02 mm/s のときと比較し約 9.7 倍と見積もられた。この <i>in vitro</i> モデルとの比較に用いる <i>in vivo</i> モデルとして、イヌ上大静脈壁の薄い心筋組織と、安定した接触が可能な環状レーザカテーテルを用いて光増感反応を行い、洞調律伝導電位の減少を環状電極カテーテルを用いて測定した。<i>In vitro</i> および <i>in vivo</i> モデルにおいて測定した活動電位の振幅減衰を用いて、両モデルの実験結果を比較した。電位減衰が初期値の 1/e になるまでに必要なエネルギーを、<i>in vitro</i> と <i>in vivo</i> 実験で比較したところ、それぞれ約 6 J/cm² および 2.6-3.9 J/cm² となり、オーダーが一致した。この結果より、<i>in vitro</i> および <i>in vivo</i> において同オーダーの効率で光増感反応障害が起きていると考えられる。</p> <p>以上本研究では、<i>in vitro</i> モデルにおける酸素環境の改善および、共通の電位基準を用いた <i>in vivo</i> 実験との比較により、作成した <i>in vitro</i> モデルを使えば光増感反応による即時的な <i>in vivo</i> 活動電位に対する酸化障害を検討できることを確認した。</p>				

Thesis Abstract

No. 1

Registration Number	<input checked="" type="checkbox"/> "KOU" <input type="checkbox"/> "OTSU" No. *Office use only	Name	Marika Doi
Thesis Title <i>In vitro</i> model to study a damage against action potential on myocardial cells by a photosensitization reaction			
Thesis Summary <p>The author established an <i>in vitro</i> myocardial cell model to investigate the immediate damage against action potential of myocardium by a photosensitization reaction using talaporfin sodium, as a basic study of proposed arrhythmia ablation method using the photosensitization reaction. A spontaneous action potential of myocardial cells and an electrical potential conducted through the myocardium were measured to confirm the similarity of this <i>in vitro</i> model to a <i>in vivo</i> model.</p> <p>A contact action potential measurement of rat myocardial cells using a multielectrode array and a fluorescence measurement of voltage-sensitive dyed cells were employed as less invasive action potential measurements during the photosensitization reaction <i>in vitro</i>. Measured action potential waveforms by the contact method were widely varied. This variation might be originated from a contact condition of the cells on the electrode. The author judged that this method was not appropriate to the purpose of this study. The action potential measurement with the voltage sensitive dye was relatively reliable under a stained condition considering the dye toxicity. The author employed the combination of this method and a solution flow to improve the oxygen supply in the photosensitization reaction area. The flow rate of 0.4 mm/s was used to keep the myocardial cells adhesion and spontaneous beats of the cells. Estimated improvement on the oxygen supply was 9.8-fold larger than that of 0.02 mm/s. Thin myocardium inside of canine superior vena cava and a combination of a ring laser emission catheter and ring electrode catheter with stable contact capability were employed as an <i>in vivo</i> model to compare the <i>in vitro</i> action potential decrease. The author applied the same judgement criterion, 1/e potential decrease, to compare the <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> action potential decreases by the photosensitization reaction on the myocardial cells/myocardium. The energies required to reach this decrease were about 6 J/cm² and 2.6-3.9 J/cm² in the <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> models, respectively. These results suggested that the oxidative damage by the photosensitization reaction on the myocardial cells in the <i>in vitro</i> model might have similar efficacy against the <i>in vivo</i> myocardium model.</p> <p>Therefore, the author concluded that proposed <i>in vitro</i> model with the improved oxygen supply and less invasive action potential measurement may be useful to investigate the photosensitization reaction conditions on <i>in vivo</i> action potential damage in the myocardium during the photosensitization reaction.</p>			